

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

In tional Application No

PCT/FR 01/00067

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 A61K35/80 A61K7/48 C12N5/00 A61P17/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

WPI Data, PAJ, EPO-Internal, FSTA, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	"SYNTHESIS FROM THE SEA" SOAP PERFUMERY AND COSMETICS., vol. 72, no. 5, May 1999 (1999-05), page 63 XP000946418 UNITED TRADE PRESS LTD. LONDON., GB ISSN: 0037-749X the whole document	1-10
X	WO 97 25998 A (TEXINFINE SA ;GUTIERREZ GILLES (FR); LAPHAL LABORATOIRES SA (FR)) 24 July 1997 (1997-07-24) page 1, line 5 -page 12, line 27	1-10
X	FR 2 760 192 A (INOVAT SARL) 4 September 1998 (1998-09-04) page 1, line 5 -page 7, line 4	1-10

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

E earlier document but published on or after the International filing date

L document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

Z document member of the same patent family

Date of the actual completion of the International search

19 June 2001

Date of mailing of the International search report

26/06/2001

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Rempp, G

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 01/00067

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9725998	A	24-07-1997	FR 2743723 A	25-07-1997
			AP 732 A	10-02-1999
			AU 724083 B	14-09-2000
			AU 1448097 A	11-08-1997
			BR 9704626 A	28-12-1999
			CA 2216600 A	24-07-1997
			CN 1183045 A	27-05-1998
			EP 0817641 A	14-01-1998
			HU 9900952 A	28-07-1999
			JP 11502235 T	23-02-1999
			PL 322310 A	19-01-1998
			US 5961981 A	05-10-1999
FR 2760192	A	04-09-1998	AU 6837698 A	22-09-1998
			WO 9839019 A	11-09-1998

THIS PAGE BLANK (USPTO)

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

(article 18 et règles 43 et 44 du PCT)

Référence du dossier du déposant ou du mandataire AT I	POUR SUITE voir la notification de transmission du rapport de recherche internationale (formulaire PCT/ISA/220) et, le cas échéant, le point 5 ci-après A DONNER	
Demande internationale n° PCT/FR 01/ 00067	Date du dépôt international (jour/mois/année) 10/01/2001	(Date de priorité (la plus ancienne) (jour/mois/année) 10/01/2000
Déposant TEXINFINE S.A		

Le présent rapport de recherche internationale, établi par l'administration chargée de la recherche internationale, est transmis au déposant conformément à l'article 18. Une copie en est transmise au Bureau international.

Ce rapport de recherche internationale comprend 2 feuilles.



Il est aussi accompagné d'une copie de chaque document relatif à l'état de la technique qui y est cité.

1. Base du rapport

- a. En ce qui concerne la **langue**, la recherche internationale a été effectuée sur la base de la demande internationale dans la langue dans laquelle elle a été déposée, sauf indication contraire donnée sous le même point.



la recherche internationale a été effectuée sur la base d'une traduction de la demande internationale remise à l'administration.

- b. En ce qui concerne les **séquences de nucléotides ou d'acides aminés** divulguées dans la demande internationale (le cas échéant), la recherche internationale a été effectuée sur la base du listage des séquences :



contenu dans la demande internationale, sous forme écrite.



déposée avec la demande internationale, sous forme déchiffrable par ordinateur.



remis ultérieurement à l'administration, sous forme écrite.



remis ultérieurement à l'administration, sous forme déchiffrable par ordinateur.



La déclaration, selon laquelle le listage des séquences présenté par écrit et fourni ultérieurement ne va pas au-delà de la divulgation faite dans la demande telle que déposée, a été fournie.



La déclaration, selon laquelle les informations enregistrées sous forme déchiffrable par ordinateur sont identiques à celles du listage des séquences présenté par écrit, a été fournie.

2.



Il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche (voir le cadre I).

3.



Il y a absence d'unité de l'invention (voir le cadre II).

4. En ce qui concerne le **titre**,



le texte est approuvé tel qu'il a été remis par le déposant.



Le texte a été établi par l'administration et a la teneur suivante:

UTILISATION D'EXTRAITS DE DICTYOTALES EN VUE DE LA PRODUCTION D'UNE COMPOSITION TOPIQUE

5. En ce qui concerne l'**abrégi**,



le texte est approuvé tel qu'il a été remis par le déposant



le texte (reproduit dans le cadre III) a été établi par l'administration conformément à la règle 38.2b). Le déposant peut présenter des observations à l'administration dans un délai d'un mois à compter de la date d'expédition du présent rapport de recherche internationale.

6. La figure **des dessins** à publier avec l'abrégi est la Figure n°



suggérée par le déposant.



parce que le déposant n'a pas suggéré de figure.



parce que cette figure caractérise mieux l'invention.



Aucune des figures n'est à publier.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No
PCT/SA 01/00067

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
CIB 7 A61K35/80 A61K7/48 C12N5/00 A61P17/00

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)
CIB 7 A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)
WPI Data, PAJ, EPO-Internal, FSTA, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	"SYNTHESIS FROM THE SEA" SOAP PERFUMERY AND COSMETICS., vol. 72, no. 5, mai 1999 (1999-05), page 63 XP000946418 UNITED TRADE PRESS LTD. LONDON., GB ISSN: 0037-749X le document en entier ---	1-10
X	WO 97 25998 A (TEXINFINE SA ;GUTIERREZ GILLES (FR); LAPHAL LABORATOIRES SA (FR)) 24 juillet 1997 (1997-07-24) page 1, ligne 5 -page 12, ligne 27 ---	1-10
X	FR 2 760 192 A (INOVAT SARL) 4 septembre 1998 (1998-09-04) page 1, ligne 5 -page 7, ligne 4 -----	1-10

☐ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

- *A* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- *E* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- *L* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- *O* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- *P* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- *T* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- *X* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- *Y* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- *Z* document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

19 juin 2001

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

26/06/2001

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Rempp, G

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 01/00067

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO 9725998	A	24-07-1997	FR	2743723 A	25-07-1997
			AP	732 A	10-02-1999
			AU	724083 B	14-09-2000
			AU	1448097 A	11-08-1997
			BR	9704626 A	28-12-1999
			CA	2216600 A	24-07-1997
			CN	1183045 A	27-05-1998
			EP	0817641 A	14-01-1998
			HU	9900952 A	28-07-1999
			JP	11502235 T	23-02-1999
			PL	322310 A	19-01-1998
			US	5961981 A	05-10-1999
FR 2760192	A	04-09-1998	AU	6837698 A	22-09-1998
			WO	9839019 A	11-09-1998

THIS PAGE BLANK (USPTO)

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
19 juillet 2001 (19.07.2001)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 01/51069 A1

(51) Classification internationale des brevets⁷ :

A61K 35/80, 7/48, C12N 5/00, A61P 17/00

F-69006 Lyon (FR). **SERRAR, Mostafa** [FR/FR]; 13, rue de la Forestière, F-69720 Saint Bonnet de Mure (FR).

(21) Numéro de la demande internationale :

PCT/FR01/00067

(74) Mandataire : **BURTIN, Jean-François**; Cabinet Gefib, 82, rue Baudin, F-92300 Levallois Perret (FR).

(22) Date de dépôt international :

10 janvier 2001 (10.01.2001)

(81) États désignés (*national*) : AL, AU, BG, BR, CA, CN, CU, CZ, DZ, HU, ID, IL, IN, JP, KR, LT, LV, MA, MK, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SG, SI, SK, TR, US, VN, YU, ZA.

(25) Langue de dépôt :

français

(26) Langue de publication :

français

(84) États désignés (*régional*) : brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR).

(30) Données relatives à la priorité :

00/00238

10 janvier 2000 (10.01.2000)

FR

Publiée :

- avec rapport de recherche internationale
- avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont reçues

(71) Déposants (*pour tous les États désignés sauf US*) : **TEXINFINE S.A.** [FR/FR]; 60, rue Duguesclin, F-69006 Lyon (FR). **PARTICIPATIONS INDUSTRIELLES ET FINANCIERES S.A.** [BE/BE]; 27, rue de Suisse, B-1060 Bruxelles (BE).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (*pour US seulement*) : **GUTIERREZ, Gilles** [FR/FR]; 39, rue Lieutenant Colonel Prévost,

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.

(54) Title: USE OF DICTYOTAL EXTRACTS IN THE PRODUCTION OF A TOPICAL COMPOSITION

(54) Titre : UTILISATION D'EXTRAITS DE DICTYOTALES EN VUE DE LA PRODUCTION D'UNE COMPOSITION TOPIQUE

(57) Abstract: The invention relates to the field of cosmetology, more specifically to novel topical compositions containing an alga extract. The aim of the invention is to use an alga extract from the Dictyotal family in the production of compositions containing an alga extract as an active ingredient which results in the maturation of keratinocytes and in the increase of desmosomal proteins for use by topical administration on the skin, mucous membranes and teguments. The invention is used on parts of the body that are subjected to problems caused by ageing.

(57) Abrégé : L'invention se rapporte au domaine de la cosmétologie, et plus particulièrement à de nouvelles compositions topiques renfermant un extrait d'algues. Elle a précisément pour objet l'utilisation d'un extrait d'algues de la famille des Dictyotales en vue de la productions de compositions contenant comme principe actif un extrait d'algues provoquant la maturation des Kératinocytes et l'augmentation des protéines desmosomiales en vue de l'utilisation par voie topique sur la peau, les muqueuses et les téguments. Utilisation sur des parties du corps exposées aux problèmes de vieillissement.

WO 01/51069 A1

THIS PAGE BLANK (USPTO)

UTILISATION D'EXTRAITS DE DICTYOTALES EN VUE DE LA PRODUCTION D'UNE COMPOSITION TOPIQUE

La présente invention se rapporte au domaine de la cosmétologie et plus précisément à un
5 nouvel actif et à de nouvelles formulations destinées à des fins cosmétiques.

Elle a plus particulièrement pour objet de nouvelles compositions topiques renfermant un
extrait d'algues, qui ont la propriété d'activer la maturation des Kératinocytes.

10 Elle a spécifiquement pour objet l'utilisation d'une préparation à base d'extraits d'une algue
de la famille des Dictyotales en vue de la production d'une composition topique, destinée à
des fins cosmétiques, amenant la maturation des Kératinocytes avec amplification de la
synthèse des cytokératines, notamment des cytokératines CK1 et CK10, et l'augmentation des
protéines desmosomiales pour contribuer à la consolidation de l'architecture stratifiée de
15 l'épiderme.

Cet extrait d'algue n'augmente pas la prolifération ni n'entraîne de vieillissement excessif des
cellules, et n'agit pas sur le métabolisme cellulaire des cellules de peau humaine.

20 L'épiderme qui représente la partie superficielle de la peau est formé d'une succession de
plusieurs couches de kératinocytes plus ou moins différenciés.

Ainsi, au niveau de la couche basale, on trouve des kératinocytes de petite taille ayant une
grande capacité de prolifération. Au-dessus de cette couche, se trouvent plusieurs couches
25 suprabasales constituées de kératinocytes matures ou évolués, puis différenciés à la suite de
leur migration sélective à partir de la couche basale.

Cette architecture stratifiée des couches suprabasales de l'épiderme peut être modulée par
plusieurs facteurs et notamment par le calcium soluble ou ionique – par opposition au calcium
30 fixé : en présence de calcium en quantité suffisante, on assiste à une stimulation de la
synthèse du cytosquelette et notamment des cytokératines, et de l'assemblage des cellules par
les desmosomes, organismes de jonction constitués de protéines transcellulaires nécessaires à
une meilleure communication entre les cellules. Ces desmosomes jouent un rôle important

dans l'organisation du cytosquelette en se servant de sites d'ancrage pour l'attachement des cytokératines.

Il a été démontré aussi, par plusieurs auteurs, que les desmosomes étaient indispensables pour le processus de stratification en favorisant la migration sélective des cellules en phase finale de différenciation, à partir de la couche basale vers les couches suprabasales.

Au niveau du cytosquelette, on note une augmentation de l'expression des cytokératines, notamment des cytokératines 1 et 10 qui sont des marqueurs de différenciation terminale sous l'effet du calcium ionique.

10

Les extraits de padine, algues de la famille des phéophycées, ont la propriété d'activer la maturation des kératinocytes.

15

La maturation des kératinocytes est observée au cours de différentes situations : c'est une étape essentielle de l'évolution des kératinocytes, l'épithélialisation des cellules épidermiques. Elle peut être ralentie lors de certaines maladies comme le psoriasis, ou activée de manière excessive dans d'autres pathologies. D'une manière générale, la maturation des kératinocytes est associée à une amélioration des propriétés mécaniques de la peau. Cette amélioration est liée à la nature même de l'évolution des kératinocytes.

20

La maturation des kératinocytes se traduit au niveau cellulaire par une augmentation des protéines du cytosquelette impliquées dans les processus de maturation, principalement les cytokératines 1 et 10 et, en quantités plus faibles, les cytokératines 5 et 13.

25

La maturation des kératinocytes se traduit au niveau tissulaire par une amélioration de l'attachement et de la cohésion des cellules liée à une augmentation de l'expression des protéines desmosomiales. La maturation des Kératinocytes est très active dans les peaux des sujets jeunes. La différenciation s'exprime rapidement dans les peaux des personnes âgées.

Ces propriétés sont recherchées par l'industrie cosmétique, qui pourrait être incitée à mettre sur le marché des compositions qui permettraient de doter la peau d'une meilleure résistance.

30

La maturation des cellules épithéliales est en outre recherchée lors de greffes de peau et d'une manière générale lors de la culture des kératinocytes.

La maturation des kératinocytes se différencie du vieillissement cellulaire. Elle ne modifie ni la prolifération ni le métabolisme mitochondrial.

Les substances habituellement utilisées pour provoquer la maturation des kératinocytes accélèrent la différenciation et ainsi le vieillissement. Dans un premier temps, elles accroissent la division des cellules, elles provoquent ensuite l'effondrement de la prolifération. Au niveau du métabolisme mitochondrial, elles augmentent la respiration cellulaire puis l'inhibent.

A ce jour, les biologistes ne disposent pas de substances susceptibles d'améliorer la différenciation des kératinocytes sans provoquer à terme un vieillissement excessif des cellules. Le vieillissement biologique se traduit par une diminution et par un ralentissement du métabolisme général et notamment par une baisse des potentiels de prolifération et de synthèse.

Or, on vient de trouver, de manière surprenante, que certains extraits éthanoliques ou acétoniques d'une Dictyotale appartenant aux phéophycées, la Padine, répertoriée sous le nom de *Padina pavonica*, sont sans effet sur la prolifération des cellules, que ces extraits n'ont aucune action sur les proto-oncogènes pan Ras, que ces mêmes extraits n'exacerbent, ni ne ralentissent le métabolisme mitochondrial (Test XTT ou MTT), et que néanmoins ils amplifient la maturation des kératinocytes par une meilleure expression des protéines desmosomiales et des cytokératines, notamment CK 1 et 10.

Ces extraits de *Padina pavonica* sont définis par leur procédé d'obtention selon lequel les algues séchées sont mises à macérer dans l'éthanol ou un autre solvant organique susceptible d'être évaporé. Cet extrait brut est caractérisé par son activité biologique sur les kératinocytes après chromatographie par HPLC sur silice greffée C18. Eluée avec un débit d'un millilitre par minute par un mélange méthanol – eau (90-10), la fraction active se situe entre 9 et 12 minutes de rétention. Cet extrait brut est concentré, puis la phase d'extrait brut est ajoutée en fonction du niveau d'activité constaté ou diluée dans un véhicule choisi parmi une huile, un glycol, une cire (huile de jojoba par exemple) et une paraffine ou dans un support solide comme la cellulose, la gélatine, la silice ou le talc.

Cet extrait brut de *Padina pavonica* est ainsi incorporé dans un excipient ou un véhicule propre à réaliser des compositions à des fins cosmétiques. On dispose ainsi d'un extrait titré. A cette fin, l'extrait de *Padina pavonica* titré est mélangé ou incorporé à un ou plusieurs excipients inertes non toxiques adaptés pour l'usage cosmétique. On citera à cet égard des

agents diluants, des agents épaississants, des agents dispersants, des agents émulsionnants, des agents tensioactifs, des agents d'aromatisation, des parfums et/ou des agents régulateurs de la viscosité et/ou des agents de conservation.

- 5 Les compositions selon l'invention pourront se présenter sous forme de crèmes, de suspensions, d'émulsions E/H, H/E ou Si/E, de gels, de pâtes, de pommades ou de poudres.

D'une manière préférée, on utilisera des supports destinés à être dilués ou incorporés dans des préparations telles que des crèmes ou des gels où l'extrait de *Padina pavonica* est dispersé ou

- 10 dilué avec son support inerte après évaporation du solvant et dilution avec un support inerte pour réaliser la préparation désirée, en une phase huileuse contenant éventuellement des agents tensioactifs non ioniques et/ou des silicones.

- La phase huileuse est ensuite additionnée d'une phase aqueuse contenant éventuellement un agent gélifiant ou un agent épaississant ou un régulateur de viscosité. Après agitation
15 prolongée, on obtient ainsi une émulsion que l'on incorpore dans une base cosmétique, grasse ou non grasse, pour réaliser une crème ou un gel. On procédera de manière semblable pour les préparations à phase continue huileuse.

On pourra également incorporer directement la poudre d'extrait sec de *Padina pavonica* dans une base grasse comme la vaseline ou la lanoline pour former une pommade.

- 20 On pourra tout aussi bien utiliser l'extrait alcoolique de *Padina pavonica*, l'incorporer dans une solution de polyéthylèneglycol contenant un agent dispersant ou tensioactif, et l'additionner d'une huile de silicone pour réaliser une émulsion fluide que l'on peut, si désiré, colorer ou parfumer à l'aide d'une essence de fleurs ou de plantes naturelle ou bien encore avec une substance odoriférante comme une ionone ou le lavendulol.

- 25 Les compositions cosmétiques contiennent de 0,1 g à 200 g d'extrait de *Padine* par Kg de préparation, et en particulier de 4 à 150 g par Kg en fonction de l'activité de la préparation brute et des qualités du produit final. On précise ici qu'il s'agit de la concentration de l'extrait dosé en activité à 200 000 unités d'activité (UA) par litre.

- Les compositions cosmétiques sont destinées à être appliquées sur le corps et notamment sur
30 les parties du corps les plus exposées à des problèmes de vieillissement comme le visage, les bras, le haut du corps et le décolleté.

Les compositions pourront être appliquées de une à quatre fois par jour, de préférence de deux à trois fois par jour pendant une période s'échelonnant de 10 à 60 jours, de préférence de 15 à

30 jours. La teneur en principe actif s'échelonne de 20 UA/Kg à 80 000 UA/Kg de préparation galénique finale, et de préférence de 2 000 à 40 000 UA/Kg. La concentration est déterminée selon l'activité de la préparation finale et en tenant compte du fait que le principe actif est constitué de l'extrait brut filtré.

5

Bien que l'invention se rapporte essentiellement à l'utilisation de préparations topiques destinées à des fins cosmétiques, il n'est pas exclu qu'une utilisation par voie générale conduirait à des résultats similaires.

10 Le titre de 200 000 Unités d'activité / litre signifie que 20 µl d'extrait éthanolique rétablissent au moins 50 % de l'activité de synthèse des glycosaminoglycanes, de 200 000 fibroblastes (cellules extraites d'explants de peau provenant de sujets sains et adultes, cette variation étant induite par l'agent délétère résultant de l'addition d'une solution de 20 UI/L de xanthine oxydase à 0,25 mMol d'hypoxanthine. Ce système s'applique seulement à l'extrait brut.

15

L'invention s'étend encore à l'utilisation d'une préparation d'extraits d'algues de la famille des Dictyotales dans des milieux de culture pour augmenter la maturation des kératinocytes.

L'activité biologique des extraits de Dictyotales a été mise en évidence sur les tests suivants.

20

L'extrait de Padine n'agit pas sur le métabolisme cellulaire des cellules de la peau humaine.

Les Fibroblastes

25 Test XTT

Tableau 1

	Témoin	5 µl	10 µl	20 µl	50 µl
Moyenne	0,269	0,250	0,272	0,241	0,261
Ecart type	0,014	0,008	0,015	0,011	0,013

Ces chiffres sont schématisés par l'histogramme sur le métabolisme mitochondrial des fibroblastes traités par un extrait de Dictyotales, à la Figure 1.

L'extrait de Padine n'agit pas sur la prolifération cellulaire des cellules de la peau humaine.

Les fibroblastes

- 5 Numération des cellules après 48 heures de culture

Tableau 2

	Témoin	5 µl	10 µl	20 µl	50 µl
Moyenne	21 824	19 858	22 157	21 985	20 530
Ecart type	704	654	641	384	518

Ces chiffres sont schématisés par l'histogramme sur la prolifération des fibroblastes traités par un extrait de Dictyotales, à la Figure 2.

- 10 Les Kératinocytes

Numération des cellules après 48 heures de culture

Tableau 3

	Témoin	5 µl	10 µl	20 µl	50 µl
Moyenne	10 249	10 184	9 756	10 911	10 284
Ecart type	655	507	587	584	445

- 15 Ces chiffres sont schématisés par l'histogramme sur la prolifération des kératinocytes traités par un extrait de Dictyotales, à la Figure 3.

L'extrait de Padine agit sur la maturation des kératinocytes

Analyse de la cytokératine 10

- 20 • Principes

Les anticorps dirigés contre la cytokératine 10 sont révélés à l'aide d'un conjugué fluorescent. Tous les clichés sont pris au même grossissement et sont reproduits en annexe (figures 5 et 6).

- Résultats

- Valeurs

- 25 Les clichés obtenus selon la méthode décrite sont numérisés par un ordinateur : il procède au comptage des pixels représentant les points de fluorescence ; le signal est calculé en tenant compte du nombre total de pixels du cliché.

Résultats

Signal cytokératine

Tableau 4

	5 ans	35 ans	50 ans
Moyenne témoin	15	10	5
Ecart type	3	5	2
Extrait de Padine	58	62	55
Ecart type	3	4	8

5 **L'extrait de Padine agit sur la maturation des kératinocytes****Analyse des protéines desmosomiales.**

◦ Principes

Les anticorps dirigés contre les protéines des desmosomes sont révélés à l'aide d'un conjugué fluorescent. Tous les clichés sont pris au même grossissement (figures 6 et 7).

10 ◦ Résultats

- Valeurs

Les clichés obtenus selon la méthode décrite sont numérisés par un ordinateur qui procède au comptage des pixels représentant les points de fluorescence ; le signal est obtenu par calcul en tenant compte du nombre total de pixels du cliché.

15

Signal protéines des desmosomes

Tableau 5

	20 ans	40 ans	60 ans
Moyenne témoin	120	105	55
Ecart type	20	15	17
Extrait de Padine	115	125	120
Ecart type	15	10	20

Ces chiffres sont schématisés par l'histogramme sur les protéines desmosomiales à P2, à la Figure 4.

20

EXEMPLE I**Crème à base d'extrait de Padina pavonica titré à 200 000 Unités / litre**

	Ingrédients	%
Phase A	Alcool cétyrylique et Ceteareth-20	3,5
	Alcool cétylique	3,5
	Palmitate d'octyle	9
	Acetate de DL- α - Tocopherol	0,1
Phase B	Eau désionisée	qsp 100
Phase C	Caséine - Gomme xanthane	1
Phase D	Conservateur(s)	1
	Extrait de Padina pavonica titré à 200 000 Unités / litre	4
	Gomme xanthane	0,3

Chauffer la phase A à 75°C.

Chauffer séparément la Phase B à 75°C.

Additionner lentement la Phase A dans la Phase B sous forte agitation.

- 5 Une fois ce mélange terminé, ajouter extemporanément la phase C toujours sous forte agitation pour l'homogénéisation.

Laisser refroidir jusqu'à obtenir une température inférieure à 40°C et ajouter séparément les éléments de la phase D sous agitation plus faible.

10 EXEMPLE II

Gel à base d'extrait de Padina pavonica titré à 200 000 Unités / litre

	Ingrédients	%
Phase A	Glycérol	4
	Carbomère	1
Phase B	Eau désionisée	qsp100
Phase C	PEG-78-glyceryl cocoate	1
	Extrait de Padina pavonica titré à 200 000 Unités / litre	2
	Huile essentielle d'orange amère	0,1
Phase D	Conservateur (s)	0,7
Phase E	NaOH diluée à 10%	qsp pH=6

Additionner la phase A dans la Phase B.

Sous agitation additionner la Phase C.

Puis ajouter la phase C sous agitation forte.

Une fois homogénéisation complète, ajouter D.

Stabiliser le pH à 5 -6 par de la soude diluée.

5

EXEMPLE III

Lait à base d'extrait de Padina pavonica titré à 200 000 Unités / litre

	Ingrédients	%
Phase A	Cetearyl glucoside + alcool cétéarylique	5
	Huile d'amandes douces	10
	Huile de Jojoba	5
Phase B	Eau désionisée	qsp 100
	Tampon citrate/ citrique pH=5,5	
Phase C	Caséine-Gomme xanthane	1,5
Phase D	Tocopherol	0,1
	Extrait de padina pavonica titré à 200 000 U / litre	1
	Conservateur(s)	0,7

Chauffer la phase A à 75°C.

10 Chauffer séparément la Phase B à 75°C.

Additionner lentement la Phase A dans la Phase B sous forte agitation.

Une fois ce mélange terminé, ajouter extemporanément la phase C toujours sous forte agitation pour l'homogénéisation.

15 Laisser refroidir jusqu'à obtenir une température inférieure à 40°C et ajouter séparément les éléments de la phase D sous agitation plus faible.

EXEMPLE IV

Crème à base d'extrait de Padina pavonica titré à 200 000 Unités / litre

	Ingrédients	%
Phase A	Huile de Paraffine	10
	Alcool cétéarylique	1,5
	Stéarate de sorbitane	1,5
	Polysorbate 60	2,5

Phase B	Eau désionisée	qsp 100
Phase C	Extrait de padina pavonica titré à 200 000 unités/litre	10
Phase D	Polyacrylamide et isoparaffine C13-C14 et Laureth-7	1,4
	Conservateur(s)	0,7

Chauffer la phase A à 75°C.

Chauffer séparément la Phase B à 75°C.

Additionner lentement la Phase A dans la Phase B sous forte agitation.

- 5 Laisser refroidir sous agitation faible jusqu'à obtenir une température de 40°C et ajouter la phase C sous agitation forte.

Lorsque le mélange est bien homogène, ajouter séparément les éléments de la Phase D.

REVENDICATIONS

1. Utilisation d'une préparation à base d'extrait d'algues de la famille des Dictyotales, en vue de la production d'une composition topique destinée à des fins cosmétiques, en vue de la maturation des Kératinocytes, avec amplification de la synthèse des cytokines et augmentation des protéines desmosomiales.
2. Utilisation d'une préparation à base d'extrait d'algues de la famille des Dictyotales, selon la revendication 1, caractérisée en ce que le principe actif est un produit préparé après extraction de l'algue et purification par HPLC sur silice greffée en C₁₈ d'un extrait brut puis élution par un mélange méthanol / eau, pour isoler une fraction active possédant un temps de rétention compris entre 9 et 12 minutes.
3. Utilisation d'une préparation selon la revendication 1, dans laquelle le principe actif provient d'un extrait éthanolique ou acétonique de l'algue *Padina pavonica*.
4. Utilisation d'une préparation selon la revendication 1 ou la revendication 2, dans laquelle l'extrait de *Padina pavonica* est évaporé à sec puis dispersé dans un support inerte, liquide ou solide et dilué dans un support inerte, liquide ou solide.
5. Utilisation d'une préparation selon la revendication 1 ou la revendication 2, dans laquelle l'extrait de *Padina pavonica* est incorporé dans un support ou un véhicule approprié pour la réalisation de préparations topiques en phase huileuse, en phase aqueuse ou à sec, telles que crèmes, suspensions, émulsions, gels, pommades ou poudre.
6. Utilisation d'une composition selon la revendication 1 ou la revendication 2, dans laquelle l'extrait de *Padina pavonica* est incorporé dans une solution de polyéthylèneglycol contenant un agent dispersant ou un agent tensioactif, et dans laquelle la solution est additionnée d'une huile de silicone, pour réaliser une émulsion fluide.
7. Utilisation d'une préparation à base d'extrait d'algues de la famille des Dictyotales selon la revendication 1, dans laquelle la teneur en principe actif s'échelonne de 0,1 à 200 g par kg de préparation.

8. Utilisation d'une préparation à base d'extrait d'algues de la famille des Dictyotales selon la revendication 1 ou la revendication 2, dans laquelle la teneur en principe actif s'échelonne de 4 à 150 g par kg de préparation.
- 5 9. Utilisation d'une préparation à base d'extrait d'algues de la famille des Dictyotales selon la revendication 1 ou la revendication 2, dans laquelle la concentration de l'extrait d'algue est dosée en activité à 200.000 Unités (UA) par litre.
- 10 10. Utilisation d'une préparation à base d'algues de la famille des Dictyotales selon la revendication 1 ou la revendication 2, dans laquelle la teneur en extrait de *Padina pavonica* s'échelonne de 20 à 80.000 Unités d'activité (UA) par kg de principe actif sur un support, par kg de préparation topique finale.
- 15 11. Utilisation d'une préparation à base d'extrait d'algues de la famille des Dictyotales selon la revendication 1 ou la revendication 2, dans des milieux de culture pour augmenter la maturation des Kératinocytes.

Figure 1

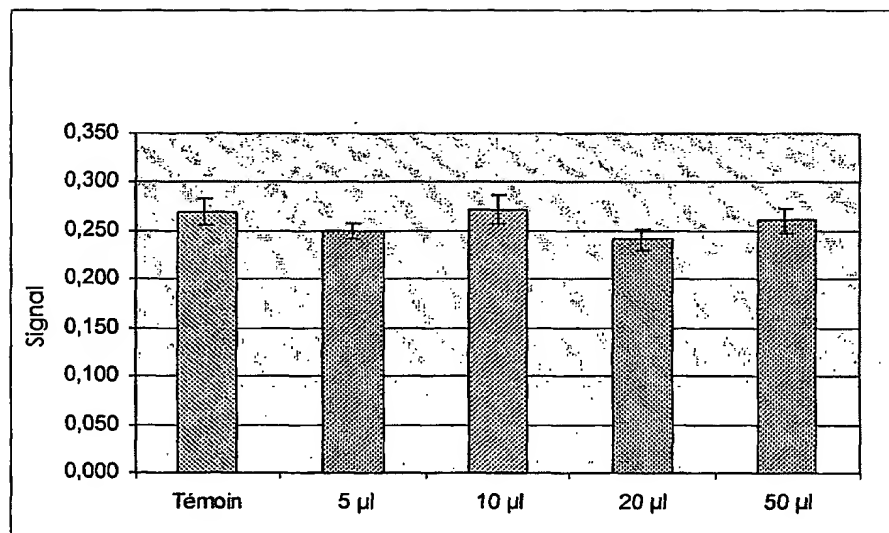


Figure 2

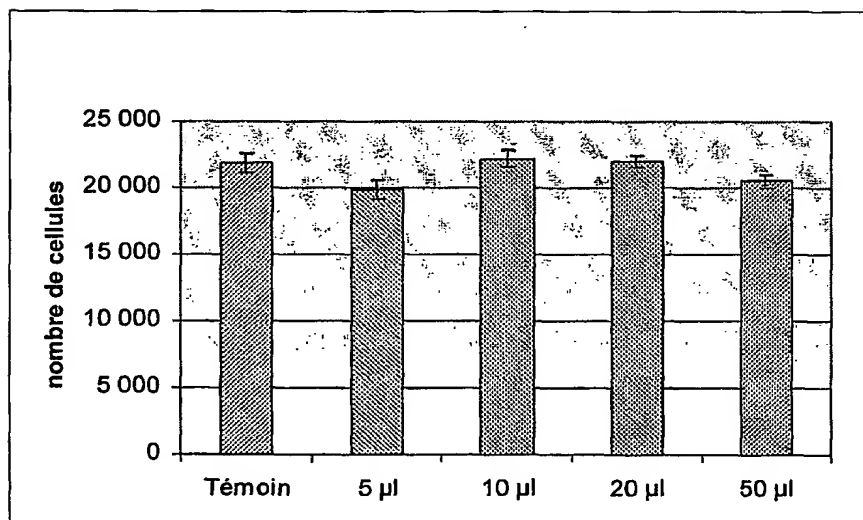


Figure 3

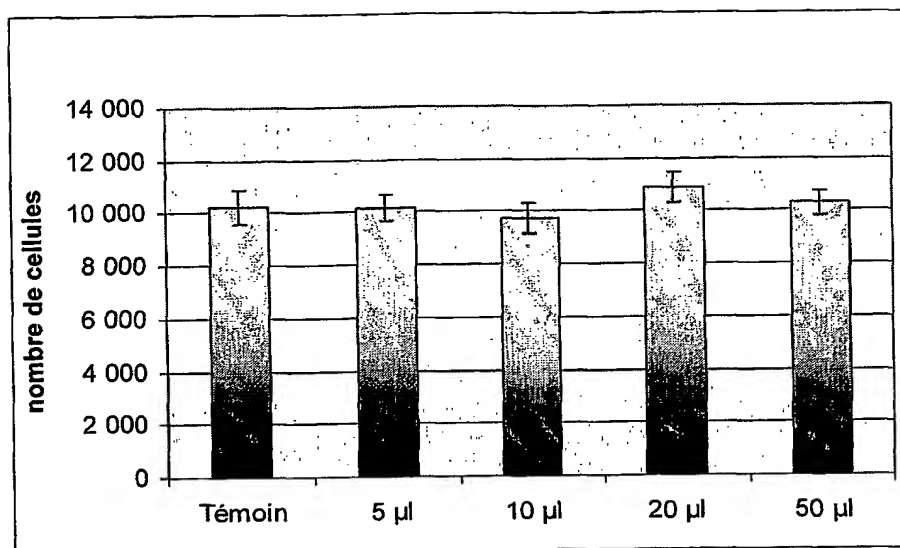


Figure 4

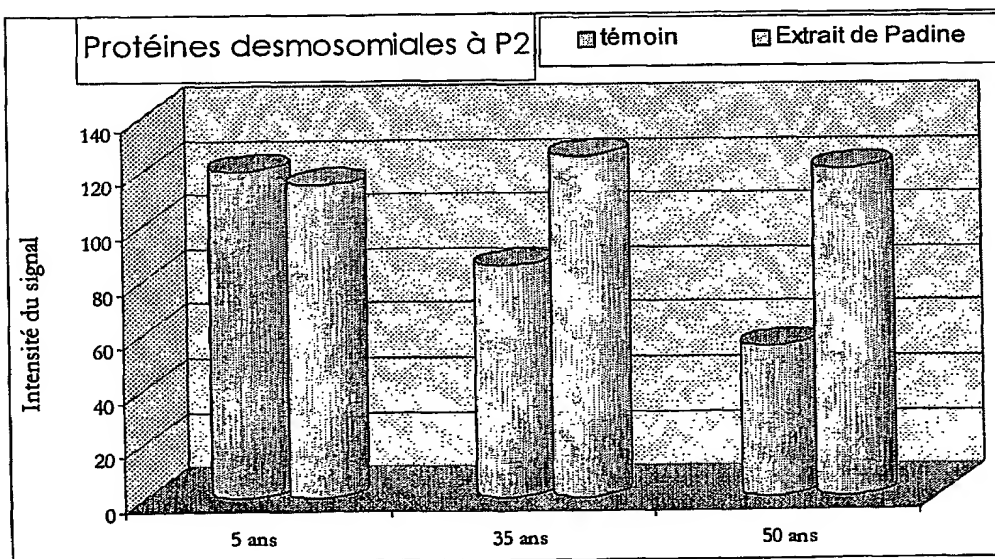


Figure 5

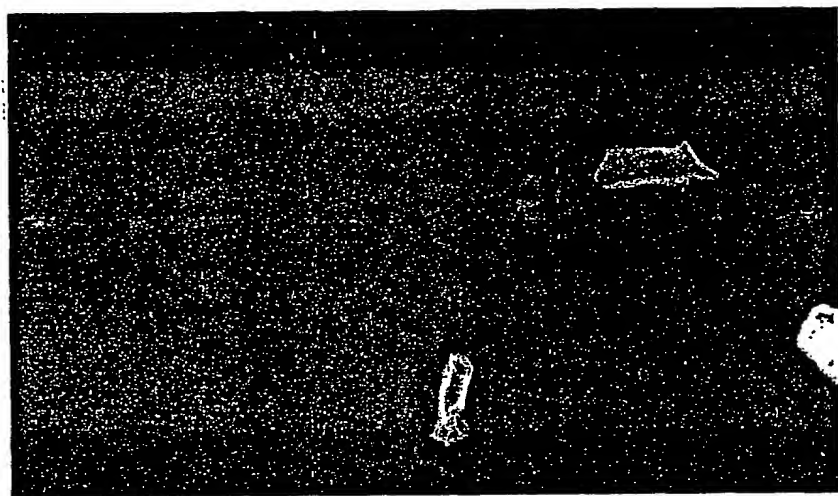


Figure 6

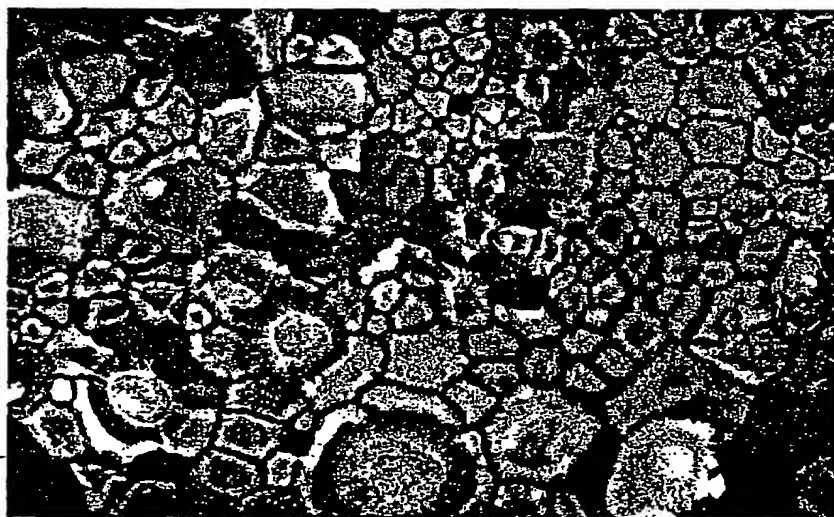


Figure 7

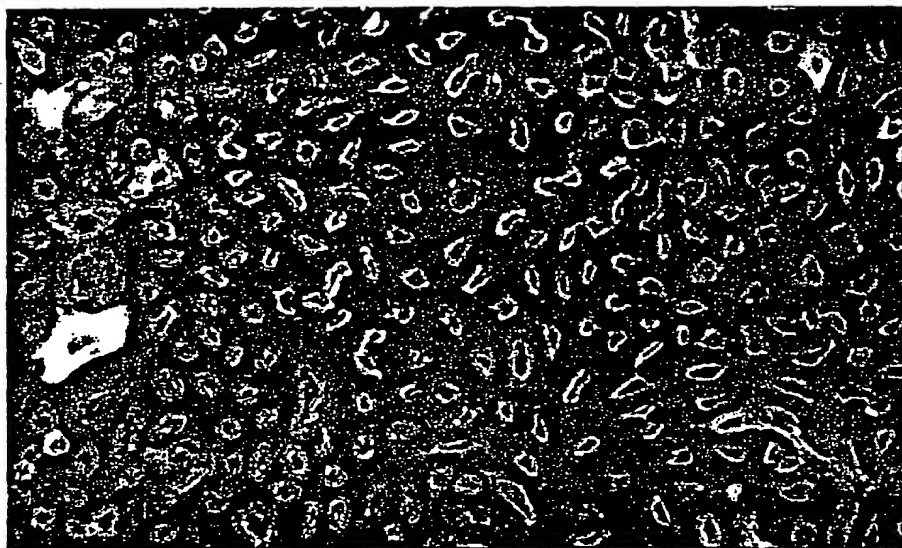
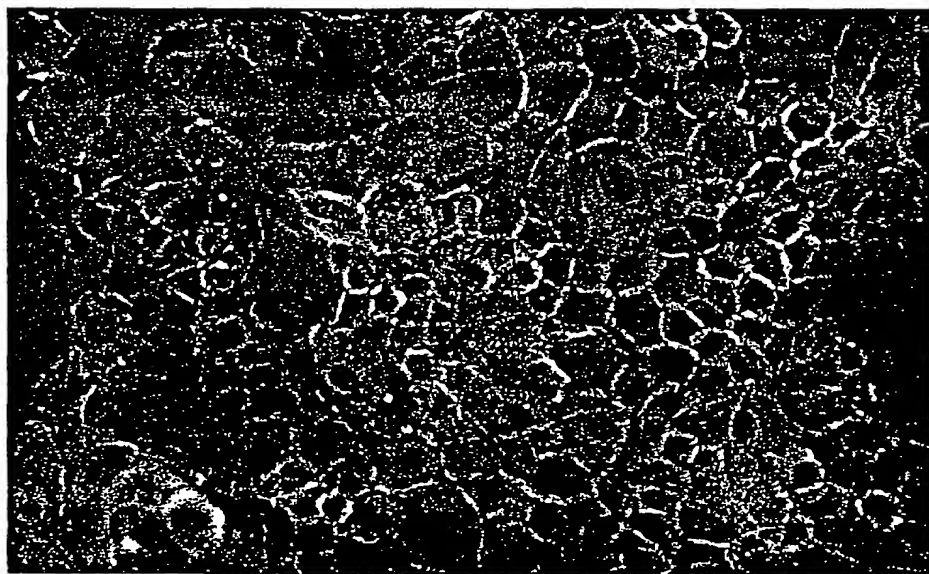


Figure 8



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 01/00067

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 A61K35/80 A61K7/48 C12N5/00 A61P17/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

WPI Data, PAJ, EPO-Internal, FSTA, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	"SYNTHESIS FROM THE SEA" SOAP PERFUMERY AND COSMETICS., vol. 72, no. 5, May 1999 (1999-05), page 63 XP000946418 UNITED TRADE PRESS LTD. LONDON., GB ISSN: 0037-749X the whole document	1-10
X	WO 97 25998 A (TEXINFINE SA ;GUTIERREZ GILLES (FR); LAPHAL LABORATOIRES SA (FR)) 24 July 1997 (1997-07-24) page 1, line 5 -page 12, line 27	1-10
X	FR 2 760 192 A (INOVAT SARL) 4 September 1998 (1998-09-04) page 1, line 5 -page 7, line 4	1-10

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

E earlier document but published on or after the international filing date

L document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

& document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

19 June 2001

Date of mailing of the international search report

26/06/2001

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Rempp, G

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International Application No
PCT/FR 01/00067

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9725998 A	24-07-1997	FR 2743723 A	25-07-1997
		AP 732 A	10-02-1999
		AU 724083 B	14-09-2000
		AU 1448097 A	11-08-1997
		BR 9704626 A	28-12-1999
		CA 2216600 A	24-07-1997
		CN 1183045 A	27-05-1998
		EP 0817641 A	14-01-1998
		HU 9900952 A	28-07-1999
		JP 11502235 T	23-02-1999
		PL 322310 A	19-01-1998
		US 5961981 A	05-10-1999
FR 2760192 A	04-09-1998	AU 6837698 A	22-09-1998
		WO 9839019 A	11-09-1998

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

De ide Internationale No
PCT/FR 01/00067

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE

CIB 7 A61K35/80 A61K7/48 C12N5/00 A61P17/00

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 7 A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

WPI Data, PAJ, EPO-Internal, FSTA, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	"SYNTHESIS FROM THE SEA" SOAP PERFUMERY AND COSMETICS., vol. 72, no. 5, mai 1999 (1999-05), page 63 XP000946418 UNITED TRADE PRESS LTD. LONDON., GB ISSN: 0037-749X le document en entier	1-10
X	WO 97 25998 A (TEXINFINE SA ;GUTIERREZ GILLES (FR); LAPHAL LABORATOIRES SA (FR)) 24 juillet 1997 (1997-07-24) page 1, ligne 5 -page 12, ligne 27	1-10
X	FR 2 760 192 A (INOVAT SARL) 4 septembre 1998 (1998-09-04) page 1, ligne 5 -page 7, ligne 4	1-10



Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents



Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

- "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- "Z" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

19 juin 2001

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

26/06/2001

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Rempp, G

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

De l'Inde Internationale No

PCT/FR 01/00067

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 9725998 A	24-07-1997	FR 2743723 A	25-07-1997
		AP 732 A	10-02-1999
		AU 724083 B	14-09-2000
		AU 1448097 A	11-08-1997
		BR 9704626 A	28-12-1999
		CA 2216600 A	24-07-1997
		CN 1183045 A	27-05-1998
		EP 0817641 A	14-01-1998
		HU 9900952 A	28-07-1999
		JP 11502235 T	23-02-1999
		PL 322310 A	19-01-1998
		US 5961981 A	05-10-1999
FR 2760192 A	04-09-1998	AU 6837698 A	22-09-1998
		WO 9839019 A	11-09-1998